

Aus der Inneren Abteilung des
Städtischen Behring-Krankenhauses Berlin-Zehlendorf
Chefarzt: Professor Dr. med. Fritz A. Pezold

EXPERIMENTELLE FIBRINOLYSE MITTELS STREPTOKINASE AN
INTRAVITAL ENTSTANDENEN GERINNSELN AUS DEN LEICHEN

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Ulrich Sparr

aus Belzig/Mark

1967

Aus der Inneren Abteilung des
Städtischen Behring-Krankenhauses Berlin-Zehlendorf
Chefarzt: Professor Dr. med. Fritz A. Pezold

EXPERIMENTELLE FIBRINOLYSE MITTELS STREPTOKINASE AN
INTRAVITAL ENTSTANDENEN GERINNSELN AUS DEN LEICHEN

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Ulrich Sparr

aus Belzig/Mark

Dekan: Professor Dr. med. Hans Wolfgang Spier
Referent: Professor Dr. med. Fritz A. Pezold
Korreferent: Professor Dr. med. Wilhelm Maßhoff



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 26. Oktober 1967

INHALTSVERZEICHNIS

I	A	Geschichtlicher Überblick	Seite	2
	B	Allgemeines zur Fibrinolyse	Seite	4
	C	Physiologie zur Fibrinolyse	Seite	7
	D	Klinische Anwendung der Thrombolyse	Seite	10
II	E	Eigene Untersuchungen	Seite	14
	F	Histologische Untersuchungen	Seite	43
	G	Zusammenfassung der eigenen Untersuchungen und deren Ergebnisse	Seite	49
III		Diskussion	Seite	52
IV		Zusammenfassung	Seite	60
V		Literaturhinweise	Seite	61
VI		Lebenslauf	Seite	66

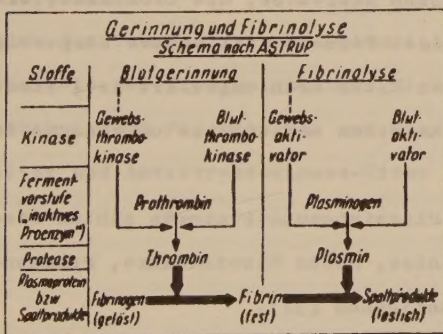
Geschichtlicher Überblick

Das Phänomen der Fibrinolyse ist seit dem 18. Jahrhundert bekannt. Bereits 1761 wurde die post-mortale Blutfibrinolyse von MORGAGNI beschrieben. Bei der Untersuchung von Leichengerinnseln konnte er feststellen, daß sich diese nach einiger Zeit wieder auflösten. 1838 beobachtete DENTS die Wiederauflösung von Blutgerinnseln in vitro, also die spontane Blutfibrinolyse. Die fibrinolytische Fähigkeit des Urins wurde 1855 von SAHLI beschrieben. Die Definition "Fibrinolyse" stammt von DASTRE, 1893. 1906 stellte MORAWITZ fest, daß das Blut von Leichen nicht nur während der Sektion flüssig blieb, sondern auch Fibringerinnsel aus normalem Blut auflösen konnte, wenn der Tod überraschend und plötzlich eingetreten war. YUDIN beobachtete 1937 bei der Untersuchung dieser Vorgänge, daß eine Gerinnung zwar eintrat, sich jedoch nach 1 bis 2 Stunden wieder auflöste. 1921 entdeckte GRATIA, daß Staphylokokken eine fibrinolytische Wirkung auf künstlich hergestellte Blutgerinnsel ausübten. 1933 beobachteten TILLET und GARNER nach Einwirkung von Streptokokken eine fibrinolytische Aktivität des Blutes. ROSENMANN konnte 1936 Plasmin isolieren. SCHMITZ stellte im gleichen Jahr fest, daß die Fibrinolyse ein durch eine dem Fibrin anhaftende Proteinase hervorgerufener proteolytischer Prozeß ist. 1943 berichteten TAGNON, DAVIDSON, ZAYLOR, daß es sich beim Auftreten plasmatischer Protease-Aktivität fast immer um eine spezifische fibrinolytische

Proteolyse handelt. CHRISTENSEN konnte 1945 feststellen, daß die fibrinolytische Wirkung durch Aktivierung eines proteolytischen Systems zustande kommt und bezeichnete dieses fibrinolytisch wirksame Extrakt aus hämolysierenden Streptokokken als Streptokinase. 1952 wurde von ASTRUP und MÜLLERTZ die noch heute anerkannte Konzeption über Aktivierung und Wirkung der Blutfibrinolyse formuliert (37, 21).

Allgemeines zur Fibrinolyse

Die genaue Analyse des Gerinnungsablaufes hat ergeben, daß die Fibrinolyse eine weitere Phase der Blutgerinnung ist (9). Beides sind proteolytische Vorgänge. Die biologische Aktivität ist jeweils an ein proteolytisches Ferment, Thrombin und Plasmin, gebunden. Thrombin und Plasmin entsprechen sich in ihren Funktionen bei Blutgerinnung und Fibrinolyse. Die beiden als inaktive Proenzyme im Blut vorliegenden Fermente werden durch Kinasen aktiviert, die sowohl im Blut, als auch in verschiedenen Geweben vorkommen. Unter physiologischen Verhältnissen herrscht ein vegetativ gesteuertes, ausgewogenes Zusammenspiel zwischen Fibrinbildung und Fibrinabbau, so daß Gerinnung und Fibrinolyse in einem dynamischen Gleichgewicht stehen (9, 22).



Es besteht jedoch ein großer Unterschied in der Geschwindigkeit, mit der Fibrinbildung und Fibrinabbau verlaufen. Die rasch erfolgende Fibrinbildung "erfordert eine geringe Enzymaktivität, die Fibrinolyse dagegen erfolgt unter starker proteolytischer Einwirkung nur langsam.

Die Proenzyme Prothrombin wie Plasminogen haben mehrere Aktivierungsmöglichkeiten. Derartige Aktivatoren konnten in Plasma, anderen Körperflüssigkeiten und in bestimmten Geweben nachgewiesen werden (37). Praktisch kommt jeder Körperflüssigkeit, die durch ein Röhrensystem fließen muß, eine fibrinolytische Fähigkeit zu (22). Zu den menschlichen Organen, die plasminogenaktivierende Substanzen besitzen, zählen Uterus, Nebennieren, Prostata, Schilddrüse, Lunge, Ovarium, Herz, Hirn, Testes, Milz, Leber und biologische Flüssigkeiten wie der Harn, dessen Aktivator, die Urokinase, ein ester- und caseinspaltendes Ferment ist. Andere körpereigene Aktivatoren, deren Natur noch ungeklärt ist, findet man im Endothel von Arterien und dem sie umgebenden Bindegewebe (37).

Zu den exogenen Plasminogenaktivatoren zählen Streptokinase, Staphylokinase, neben Nikotinsäure, Pyrogenen, Allergenen und Antigenen (37).

Nach Untersuchungen von SEEGERS soll auch dem Thrombin eine fibrinolytische Eigenschaft zukommen (34).

Streptokinasen sind ausgeschiedene Fermente von β -hämolytischen Streptokokken der Lancefield-Gruppe C, die durch Reinigung und Filtration von den Substanzen der Bakterienzellen und Nährböden befreit sind und durch Lysophilisierung haltbar gemacht worden sind. Sie enthalten Streptodornasen und Hyaluronidasen (37).

Eine weitere Parallelität zwischen Blutgerinnung und Fibrinolyse besteht darin, daß die Aktivität der fibrinolytisch wirksamen Proteasen durch ein kompliziertes Antifermentsystem gehemmt wird, das eine Sicherungsfunktion gegen Entgleisung der proteolytischen Vorgänge ausübt. Sofern der Organismus nicht Kontakt mit Streptokokken hatte, verfügt er über nur geringe Mengen an Inhibitoren gegen das fibrinolytische Fermentsystem. Eine Vermehrung der Plasminogenaktivatoren findet man bei Stressituationen, bei bestimmten Infektionskrankheiten und auch postoperativ.

So ist also das fibrinolytische Potential, die maximale Aktivierbarkeit der fibrinolytischen Eigenschaften des Blutes abhängig von Plasminogen- und Plasmingehalt, Antiplasmintiter und Antistreptokinase-Titer (22, 37).

Der Fibrinabbau als Proteolyse

Nach ASTRUP läßt sich der Ablauf der Fibrinolyse in

3 Phasen unterteilen:

1. Im Blutplasma vorhandene Proaktivatoren werden durch exogene oder körpereigene Einflüsse in plasmatische Aktivatoren umgewandelt. Zu den körpereigenen Aktivatoren zählen Gewebsaktivatoren, zelluläre Proaktivatoren aus Leukocyten, spontane Induktionen, zu den exogenen Aktivatoren zählen Streptokinase, Urokinase.
2. Die plasmatischen Aktivatoren können nun ihrerseits Plasminogen zu Plasmin aktivieren. Das Plasmin spaltet in der
3. Phase Fibrin in Fibrinpolypeptide, die durch Peptidasen weiter abgebaut werden (37).

Physiologie der Fibrinolyse

Bei der Thrombenentstehung gelangt mit den Thrombocyten und dem Fibrin Proaktivator und Plasminogen in den Thrombus. Plasminogen ist nicht streng substratspezifisch, sondern wird mit den Proaktivatoren von den Fibrinfäden adsorbiert. Dieses als "intrinsic" bezeichnete Plasminogen, im Gegensatz zum "extrinsic" Plasminogen des fließenden Blutes, ermöglicht die Auflösung des Fibringerüstes von innen her (36). Da die Streptokinase ein relativ geringes Molekulargewicht von 45 000 hat, kann sie in den Thrombus hineindiffundieren. Der so in die Nähe des Proak-

tivator-Plasminsystemes gebrachte Aktivator Streptokinase wird das am Fibrin adsorbierte Plasminogen im Thrombus in Plasmin überführen. Dabei bildet die Streptokinase mit dem Proaktivator Plasminogen einen instabilen Komplex, der durch ϵ -Aminokapronsäure gespalten werden kann. Hier liegt also der Angriffspunkt einer der klinisch angewendeten Inhibitoren der Fibrinolyse, zu denen neben der ϵ -Aminokapronsäure unter anderem noch ein Inhibitor der Sojabohne zählt (9). Durch die im Blut befindlichen Antiplasminase und Anti-Streptokinase wäre eine Neutralisation der Wirkung fibrinolytischer Substanzen denkbar. Es ist aber festgestellt worden, daß die Inhibitoren im Thrombus in wesentlich geringeren Mengen vorhanden sind als im Blut, so daß Inaktivierung innerhalb des Thrombus fraglich erscheint (36). Ferner soll das im zirkulierenden Blut befindliche aktivierte Plasmin infolge seines hohen Molekulargewichtes nicht in den Thrombus eindringen können, sondern ihn von außen auflösen. Erhöht wird diese "äußere" Lyse noch durch die Affinität des Plasmins zum Fibrin. Die proteolytische Wirkung des Plasmins bezieht sich nicht nur auf Fibrin, sondern auch auf andere Eiweißkörper wie Prothrombin und die Gerinnungsfaktoren I, V, VII. Die Konzentration der Inhibitoren des fibrinolytischen Systemes gewährleistet jedoch einen ausreichenden Schutz der Gerinnungsfaktoren vor dem Plasmin. Durch diese dauernde Inaktivierung des Plasmins durch Antiplasminase ist die erhöhte fibrinolytische Aktivität

des Blutplasmas ohne äußere Zufuhr entsprechender Streptokinase-Mengen nur kurz.

Zwischen den Definitionen "Fibrinolyse" und "Thrombolyse" besteht kein prinzipieller Unterschied. Thrombolyse kennzeichnet den Vorgang der intravasalen Gerinnseauflösung, während Fibrinolyse sich auf die im Substrat ablaufenden Veränderungen bezieht (22).

Klinische Anwendung der thrombolytischen Therapie

Während in früheren Jahren pyrogene und allergische Nebenreaktionen eine breite therapeutische Anwendung der thrombolytischen Therapie mit Sk-haltigen Präparaten beeinträchtigten, ist es in letzter Zeit gelungen, Präparate mit einem relativ hohen Reinigungsgrad herzustellen und somit zu einer größeren klinischen Anwendung gekommen.

Auf Grund tierexperimenteller und klinischer Erfahrungen mit der thrombolytischen Therapie umfaßt diese heute etwa folgende Krankheitsbilder:

1. Frische Venenthrombosen.
2. Akute arterielle Verschlüsse der Extremitäten.
3. Myocardinfarkte.
4. Akute Lungenembolie.
5. Akute Cerebralarterienverschlüsse.
6. Akute Verschlüsse der Augenzentralgefäße.

Die praktische Durchführung der thrombolytischen Therapie erfordert neben genauen Laboratoriumsuntersuchungen vor allem eine genaue Indikationsstellung, da der Erfolg der Therapie wesentlich vom Alter, der Struktur des Gerinnsels sowie von der Regenerationsfähigkeit des vom verschlossenen Gefäß versorgten Gebietes abhängt.

Bei einer optimalen Lyse muß möglichst rasch eine ausreichende und constante lytische Aktivität in dem das Gerinnsel umgebenden Medium erreicht werden (36).

Im allgemeinen erfordern nur tiefe und ausgedehnte Verschlüsse der Extremitäten oder tiefe Beckenvenen eine thrombolytische Therapie. Ein Erfolg ist nach klinischen Erfahrungen zu erwarten, wenn das occlusierende Gerinnsel nicht älter als 3 - 4 Tage ist. Die Art der Sk-Applikation ist hierbei unterschiedlich. Von einigen Autoren wurden gute Erfolge nach diskontinuierlicher Infusion beobachtet, während andere die kontinuierliche Dauertropfinfusion vorzogen (13, 39, 11).

Für den Nachweis einer erfolgreichen Lyse steht als direkte Methode die Röntgenkontrastdarstellung in Form eines Angiogrammes zur Verfügung.

Zu 3: Die Anwendung fibrinolytischer Therapie bei Myocardinfarkten ist deswegen besonders vom Alter des Thrombus abhängig, weil die Lebensfähigkeit des vom Blutkreislauf ausgeschlossenen Herzmuskelgewebes sehr kurz ist. Der thrombotische Verschluß einer Coronararterie läßt sich ohne massiven Gewebszerfall sicher nur 1 - 3 Stunden nach Eintritt des Infarkt ereignisses rekanalisieren, wie Untersuchungen von BOUCEK und MURPHY ergeben haben (3).

Bedeutungsvoll erscheint hierbei außerdem die Auflösung capillärer und interstitieller Mikrothrombosen, wodurch nicht nur die Ausdehnung des Infarktes klein gehalten wird, sondern auch die Ernährung des umgebenden Gewebes gebessert wird (4).

Hinsichtlich des Erfolges fibrinolytischer Maßnahmen

bei Myocardinfarkten konnte auf Grund statistischer Auswertungen von SK-behandelten und konservativ behandelten Patienten einer Gruppe von Kliniken erwiesen werden, daß die SK-Behandlung des frischen Herzinfarktes die Letalität gegenüber der Koagulationstherapiebehandlung deutlich senken konnte, wie sich auch keine erhöhte Komplikationsrate gegenüber der Koagulationstherapiebehandlung feststellen ließ (23, 24).

Zu 4: Problematischer dagegen ist die Erfolgsbeurteilung bei der Lungenembolie, da wie beim Herzinfarkt eine Gefäßdarstellung nicht zumutbar ist. Kriterien für den Erfolg einer fibrinolytischen Therapie bei Lungenembolie sind nach SHEFFER und ISRAEL u. a. Rückgang der röntgenologisch faßbaren Lungenverschattung, Verschwinden der spezifischen klinischen Symptomatik, Rückbildung typischer EKG-Veränderungen und Rezidivhäufigkeit nach der Behandlung (33).

Zu 5 : SK-Behandlung bei intra- oder extracraniellen Gefäßverschlüssen stellt nach SCHMUTZLER eine Sonderindikation dar (32). Über erfolgreiche Thrombolysen bei Menschen liegen bisher nur wenige Publikationen vor, tierexperimentelle Untersuchungen sind von MEYER beschrieben worden (10, 20).

Zu 6 : Bei akuten Zentralarterienverschlüssen muß die thrombolytische Therapie innerhalb der ersten Stunde einsetzen und eine wenigstens partielle Wiederdurch-

gängigkeit erreichen, da wegen der hochgradigen Vulnerabilität irreversible Visusschädigungen eintreten (25). Bei akuten Zentralvenenverschlüssen, deren Pathogenese nicht immer thrombotischer Art sein muß, sind erfolgreiche Thrombolysen beobachtet worden, bei denen das Intervall zwischen Gefäßverschluß und Einsetzen der SK-Behandlung mehrere Stunden bis Tage betrug (25,19,10). Arterielle wie auch venöse Verschlüsse im Bereich des Augenhintergrundes haben den Vorteil, daß sie und der therapeutische Effekt dem untersuchenden Auge direkt sichtbar sind.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN:

In orientierenden Vorversuchen wurden Thromben von Leichen in Streptokinase-haltigen Lösungen suspendiert. Für die Versuche wurden intravital entstandene, gemischte Thromben verwandt, die während der Obduktion entnommen und bis zum Versuchsbeginn in physiologischer Kochsalzlösung bei 4° C aufbewahrt wurden. Die Aufbewahrung der Leichen erfolgte in Kühlräumen bei einer Temperatur von 4 - 7° C bis zur Obduktion. Um einheitliches Material zu erhalten, wurden nur Thromben aus dem venösen Gefäßanteil verwandt.

Als Streptokinase-Präparat wurde Streptase[®] (Behring-Werke, Marburg) verwandt. Als Lösungsmittel der Streptokinase wurde Serum, das aus den im Labor anfallenden Blutuntersuchungen gesammelt wurde, verwandt. Die Auflösung erfolgte in je 1 ml Serum. Zur Vermeidung von Fremdsubstanzen in den Reaktionssystemen wurde nur Serum als Lösungsmittel verwandt. Bei allen Versuchsserien wurden Kontrollen ohne Streptokinase-Zusatz durchgeführt.

Die Versuche wurden in festverkorkten, sterilen, gleich großen Uhlenhutgläsern vorgenommen, die für die Dauer des Experimentes im Wasserbad bei 37° C standen.

Um die verschiedenen Lysisgrade der Thromben photographisch demonstrieren zu können, wurden die Thromben ca. 1 cm über dem Glasboden in einem korb förmig gebo-

genen, korrosionsfreien Stahldraht befestigt. Dieser Draht wird in der Zahnmedizin zur Herstellung von kieferorthopädischen Klammern verwendet (Remanit, Dentaureum, $\varnothing$: 0,7 mm).

Bei dieser Anordnung der Thromben in den Uhlenhutgläsern ließen sich die herabsinkenden, lysierten thrombotischen Massen als zunehmender Bodenbelag beobachten. Außerdem ermöglichte diese Anordnung eine innige Verbindung der gesamten Thrombenoberfläche mit dem Streptokinase-haltigen Serum.

In den orientierenden Vorversuchen wurden als optimal lysierende Streptokinase-Dosierungen 2000 E, 5000 E und 10 000 E Streptokinase ermittelt. Der fibrinolytische Effekt konnte durch Zugabe von 1 ml $\text{m}/40 \text{ CaCl}_2$ und 1 ml Veronal-Puffer (Owrens, pH 7,3) verstärkt werden, jedoch nur in Verbindung mit 5000 E Streptokinase. Dosierungen von 2000 E und 10 000 E Streptokinase mit dem Zusatz von $\text{m}/40 \text{ CaCl}_2$ und Veronal-Puffer bewirkten keine stärkere Lysis als ohne diesen Zusatz. $\text{m}/40 \text{ CaCl}_2$ und Veronal-Puffer ohne Streptokinase hatten keinen thrombolytischen Effekt. $\text{m}/40 \text{ CaCl}_2$ und Puffer wurden deshalb nur den Ansätzen mit 5000 E Streptokinase zugesetzt.

Die für die Versuche verwandten Thromben waren ausschließlich gemischte Thromben. Thromben mit autolytierten zentralen Anteilen oder solche von Patienten mit Thrombophlebitiden, Streptokokkeninfektionen usw. wurden nicht benutzt. Für die Versuche wurden die mittle-

ren Anteile der Thromben in annähernd gleich große Stücke mit Pincette und Rasierklinge zersehnitten, da der Schwanzteil häufig später apositionell entstanden ist und im Verhältnis zum älteren Teil andere Fibrinpolymerisationen aufweisen kann. Dadurch könnte eine uneinheitliche Lysis entstehen.

Die Thrombenteile wurden gewogen und in die Uhlenhutgläser mittels der Haltevorrichtung im Streptokinasehaltigen Serum suspendiert. Vor dem Einsetzen in das Wasserbad wurden die Ansätze einer Serie nebeneinander photographiert. Die Aufnahmen wurden mit einer Voigtländer Bessamatie (Optik: 2,8) mit den Vorsatzlinsen A und D im durchscheinenden Licht ausgeführt und zwar vor der Streptokinase-Einwirkung und nach 24- und 48-stündiger Einwirkung. Das Photographieren der Versuchsansätze erfolgte unter konstanten Bedingungen auf einer besonders für diesen Zweck konstruierten optischen Bank, an der alle phototechnischen Einstellungen vor dem Herausnehmen der Uhlenhutgläser aus dem Wasserbad vorgenommen werden konnten, um die Temperaturschwankungen möglichst gering zu halten. Das zeitliche Intervall vom Herausnehmen der Gläser aus dem Wasserbad, Photographieren, bis zum Wiedereinsetzen betrug durchschnittlich 30''. Nach 48-stündiger Streptokinase-Einwirkung wurde der Versuch abgebrochen. Die Ansätze wurden noch einmal in der gleichen Versuchsanordnung photographiert und dann gewogen. Um möglichst exakte Meßwerte zu erhalten, wurden die Thromben mit

einer geringen Menge Serum auf eine Petrischale verbracht und gewogen (G_1). Dann wurde der Thrombusrest mittels einer Pincette aus dem Serumtropfen entfernt und die Petrischale mit dem Serum noch einmal gewogen (G_2). G_2 von G_1 subtrahiert, ergab das Gewicht des Thrombus.

Für den ersten Hauptversuch (Nr. 1) wurde ein Thrombus benutzt, der der V. femoralis einer 62-jährigen Patientin entnommen worden war. Die Sektion erfolgte 3 Tage nach Eintritt des Todes, der durch Lungenembolie und chronische Herzinsuffizienz verursacht worden war. Der Versuch wurde 11 Tage nach Todeseintritt angesetzt. Die zu lysierenden Thrombenstücke wogen 0,1 g (ΔG : 0,05 g). Die Abbildung A zeigt die Thromben unmittelbar nach Zugabe des Streptokinase-haltigen Serums in die Ansätze A I, II, III, IV.

Die Reaktionsgemische dieser Ansätze hatten folgende Zusammensetzungen :

A I :	2 000 E Sk,	1 ml Serum
A II :	5 000 E Sk,	1 ml Serum
		1 ml Puffer
		1 ml CaCl_2
A III :	10 000 E Sk,	1 ml Serum
A IV :	0 E Sk,	1 ml Serum (Kontrollversuch)

Das Serum aller Ansätze blieb innerhalb der ersten 4 - 5 Stunden völlig klar. Nach 6 Stunden setzte in allen Ansätzen gleichmäßig eine leichte Trübung ein,

die sich in A I - III bis zum Versuchsende verstärkte.
Im Ansatz A II war bereits nach 16 - 18^h eine vollständige Auflösung des Thrombus erfolgt.



Abb. A I II III IV

Abb. A. Annähernd gleiche Stücke eines Leichenthums, suspendiert in 1 m Serum mit von I nach II zunehmender Streptokinasekonzentration (siehe Tabelle IV Kontrollversuch ohne Streptokinase. Die Abbildung zeigt die Thrombenmittelbar nach dem Vergehen in das Flüssigkeitsmisch.



Abb. B I II III IV

Abb. B. Die gleichen Versuchsansätze nach 24 Stunden.

In A I und A III trat eine vollständige Lysierung nach 21 - 24^h ein. Die Abbildung B zeigt die Versuchsansätze nach 24^h Streptokinase-Einwirkung. Man erkennt, daß der Ansatz B I am intensivsten getrübt ist, B II und III geringer, B IV am wenigsten. In B I bis III hat sich durch die herabgesunkenen, lysierten thrombotischen Massen ein Bodensatz gebildet, der in Analogie zum Thrombengewicht und dem Grad der Auflösung annähernd gleich groß ist. In Ansatz B IV ist bis auf die Trübung keine sichtbare Veränderung eingetreten. Im Ansatz B III lassen sich auf dem unteren Drahtbogen noch sehr kleine, ausgefaserte thrombotische Reste erkennen, die jedoch gewichtsmäßig nicht zu erfassen waren. Der Bodensatz war eine in sich homogene, schwarzrote Masse, die sich durch Schütteln nur sehr schwer in dem darüberstehenden Serum unter starker Trübung auflösen ließ und nach längerem Stehen wieder sedimentierte.

Tab. 1: Thrombengewichte (in Gramm) zu den Abb. A und B:

G₁ vor, G₂ nach Streptokinase-Einwirkung.

G ₁		G ₂	
A _I	1,2	B _I	0,0
A _{II}	1,4	B _{II}	0,0
A _{III}	0,9	B _{III}	0,0
A _{IV}	1,0	B _{IV}	0,89

Der prozentuale Gewichtsverlust betrug demnach bei

Thrombus A I : 100 %
A II : 100 %
A III : 100 %
A IV : 11 % nach 24-stündiger Streptokinase-
Einwirkung.

Für den Versuch Nr. 2 wurde der Thrombus einer 84-jährigen Patientin verwandt, die an einer Bronchopneumonie ad exitum gekommen war. Der Thrombus wurde während der Obduktion am 3. Tag nach Todeseintritt der V. femoralis entnommen. Das Intervall zwischen Todeseintritt und Versuchsbeginn betrug hier nur 4 Tage. Die zu lysierenden Thrombenstücke wogen 0,09 g, (Δ G: 0,004 g). Die Versuchsbedingungen waren die gleichen wie in Versuch Nr. 1. Die Abbildung C zeigt die versuchsfertigen Ansätze vor dem Einsetzen in das Wasserbad.

Die Reaktionsgemische dieser Ansätze hatten folgende Zusammensetzungen:

C I : 2 000 E Sk, 1 ml Serum
C II : 5 000 E Sk, 1 ml Serum
1 ml Puffer
1 ml CaCl_2
C III : 10 000 E Sk, 1 ml Serum
C IV : 0 E Sk, 1 ml Serum (Kontrollversuch)

Nach dem Einführen der Thromben mittels der Drahtkörbe in das Serum bis zum Zeitpunkt des Photographierens waren 10 Minuten verstrichen. Die in dieser Zeit schon eingesetzte Thrombolyse ließ sich an einem Herunterrieseln kleinster rotbrauner Partikel auf den Glasboden erkennen. Die Abbildung C zeigt in den Ansätzen I, II, III bereits 1 mm hohe Sedimentierungen auf den Glasböden. Die Veränderungen, die nach 24^h Streptokinase-Einwirkung an den Thromben eingetreten war, zeigt die Abbildung D. Das Serum dieser Ansätze D I - IV erscheint leicht getrübt. D I - III zeigen 2 - 3 mm hohe Sedimente, aber auch in D IV ist ein 1 mm hoher Bodenbelag zu erkennen. Betrachtet man die Thromben auf dieser Abbildung, so sieht man, daß der Thrombus in D I nach unten ausgelappt ist, in D II ist er deutlich verkleinert und hängt nur noch auf der unteren Drahtwindung. Die unteren Anteile sind lamellenförmig ausgefasert und stellenweise durchsichtig. Der Thrombus in D III ist ebenfalls verkleinert. Am Thrombus in D IV ist keine Veränderung eingetreten.

Die Veränderungen, die nach 48^h Streptokinase-Einwirkung an den Thromben aufgetreten sind, zeigt die Abbildung E. In allen Ansätzen findet man eine stärkere Trübung als nach 24^h. Der Bodensatz in Abbildung E I, II, III hat als Folge der sedimentierten, lysierten thrombotischen Massen eine größere Höhe als in Abbildung D. Im Ansatz



I II III IV

Abb. C. Annähernd gleiche Stücke eines Leichenthrombus, suspendiert in 1 ml Serum mit von I nach III zunehmender Streptokinasekonzentration (siehe Text). IV Kontrollversuch ohne Streptokinase. Die Abbildung zeigt die Thromben unmittelbar nach dem Verbringen in das Flüssigkeitsgemisch.



I II III IV

Abb. D. Die gleichen Versuchsansätze nach 24 Stunden.



I II III IV

Abb. E. Die gleichen Versuchsanätze nach 48 Stunden.

E II ist er am höchsten. Obwohl es die Abbildung nicht so deutlich wiedergibt, war der Thrombus in E I an seiner gesamten Oberfläche schwammartig aufgefasert. In E II ist der Thrombus nach 48^h noch kleiner als nach 24^h. Auf der Abbildung kann man erkennen, daß die restlichen Anteile spinnengewebartig und fadenförmig nach unten ausgezogen sind. Die Oberfläche des Thrombenstückes in Ansatz E III war ebenfalls schwammartig aufgelockert, jedoch nicht wesentlich verändert im Vergleich zu Abbildung D III. Im Ansatz E IV ist keine Veränderung am Thrombus zu bemerken. Bei der nach 48 Stunden durchgeführten Gewichtskontrolle konnte man feststellen, daß die Thromben der Ansätze E I, II, III von weicher gallertiger Beschaffenheit waren, ohne Ähnlichkeit mit ihrer ursprünglichen festen, zylindrischen Form. Nur der Thrombus E IV besaß noch seine alte, feste Konsistenz.

Tab. 2: Thrombengewichte (in Gramm) zu den Abbildungen A und E: G_1 vor, G_2 nach Streptokinase-Einwirkung.

G_1		G_2	
C_I	0,9	E_I	0,3375
C_{II}	0,92	E_{II}	0,2024
C_{III}	0,88	E_{III}	0,6160
C_{IV}	0,91	E_{IV}	0,7688

Der prozentuale Gewichtsverlust betrug bei

Thrombus E I : 62,5 %

E II : 78,0 %

E III : 30,0 %

E IV : 15,5 % nach 48-stündiger Streptokinase-Einwirkung.

Um die Thrombolyse zu beschleunigen, wurde in der folgenden Versuchsserie in zeitlich gleichen Abständen das Streptokinase-haltige Serum in den Versuchsansätzen erneuert, nachdem das alte, mit lysierten Thrombenbestandteilen und Stoffwechselprodukten beladene Serum abgesaugt worden war. Der Thrombus für den Versuch Nr. 3 entstammte der V. cava inf. einer 63-jährigen Patientin, deren Tod durch akutes Herz- und Kreislaufversagen verursacht worden war. Der Versuch wurde 2 Tage nach Todeseintritt angesetzt. Um eine Vergleichsmöglichkeit zu haben, wurde mit demselben Thrombus ein Doppelversuch durchgeführt.

Für die Ansätze wurden je 3 zylindrische, verschließbare Glasröhrchen mit einem Durchmesser von 25 mm verwandt, die entsprechend der Abbildungen F und H folgende Reaktionsgemische enthielten:

F 1, H 4 : 0 E Sk, 1 ml Serum

F 2, H 5 : 5 000 E Sk, 1 ml Serum

1 ml Puffer

1 ml CaCl_2

F 3, H 6 : 5 000 E Sk, 1 ml Serum

1 ml Puffer Nach je 60' ausge

1 ml CaCl_2 wechselt

Die Zeit für den Austausch der Reaktionsgemische betrug ca. 30 - 40''. Die bei dem Versuch benutzten Thrombenstücke wogen 0,1 g (Δ G: 0,03 g). Die Abbildungen F und H zeigen die zu lysierenden Thrombenstücke auf einem Objektträger unmittelbar vor dem Einlegen in die versuchsfertigen Glasröhrchen. Man kann darauf erkennen, daß die Thromben rund sind und eine glatte Oberfläche aufweisen. Wenige Minuten nach Einwirken der Streptokinase trat in allen Ansätzen eine Trübung auf.

Nach 2 Stunden, entsprechend einem 2-maligen Streptokinase-Wechsel in den Ansätzen F 3 und H 6, traten die ersten morphologischen Veränderungen an den Thromben auf, in F 2, 3 und H 5, 6. Die Oberfläche erschien aufgefasert und zerklüftet. Nach 6 Stunden, entsprechend einem 6-maligen Wechsel der Streptokinase, wurden die Thromben photographiert und gewogen.

Die Abbildungen G und J zeigen die Thromben nach 6-stündiger Versuchsdauer. Der Thrombus aus G 1 ist unverändert geblieben. Der aus G 2 verglichen mit F 2 ist deutlich

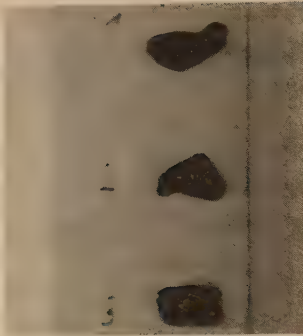


Abb. F. Annähernd gleichgroße Thrombenteile unmittelbar vor dem Verbringen in das Reaktionsgemisch. F 1 Kontrollversuch ohne Streptokinase.

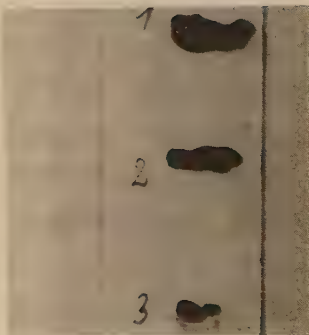


Abb. G. Die gleichen Thromben wie in Abb. F nach 6-stündiger Streptokinase-Einwirkung. Das Reaktionsgemisch von G 3 wurde alle 60' erneuert.



Abb. H. Thrombenteile des Parallel-Versuches, der der Abb. F entspricht, kurz vor dem Verbringen in die Reaktionsgemische. H 4 ohne Streptokinase-Zusatz.



Abb. J. Die gleichen Thrombenteile wie in Abb. H nach 6-stündiger Streptokinase-Einwirkung. Hier wurde das Reaktionsgemisch von H 6 alle 60' ausgewechselt.

verkleinert. Der Thrombus aus G 3 hat nur noch $1/3$ seiner ursprünglichen Größe, ähnlich ist es bei dem aus Ansatz J 6.

Tab. 3 : Thrombengewichte zu den Abbildungen F, G, H und I: G_1 vor, G_2 nach Streptokinase-Einwirkung.

G_1	G_2
F_1 0,11	G_1 0,1006
F_2 0,10	G_2 0,032
F_3 0,12	G_3 0,009
H_4 0,10	J_4 0,0925
H_5 0,10	J_5 0,0344
H_6 0,09	J_6 0,0126

Der prozentuale Gewichtsverlust betrug bei

Thrombus	1 : 8,5 %	J	4 : 7,5 %
G	2 : 68,0 %	J	5 : 65,6 %
	3 : 92,5 %	J	6 : 86,0 %

Nach Untersuchungen von HEIMBURGER und TODD befinden sich Proaktivatoren nicht nur im Blut und in den Körperflüssigkeiten, sondern auch im Endothel arterieller Blutgefäße (9). Um einen möglichen Einfluß der Gefäßwand auf die Thrombolysenachzuweisen, wurde in der folgenden Versuchsserie

in den einzelnen Ansätzen ein Stückchen Aortenwand hinzugesetzt. Bei der Obduktion eines 60-jährigen Patienten wurde unterhalb des Aortenbogens ein ca. 40 cm^2 großes Stück aus der Aorta herausgeschnitten. Das Material wurde bei 4° C . in Serum suspendiert, und in das Untersuchungslabor transportiert. Entsprechend der Größe der zu lysierenden Thromben wurde die Gefäßwand aufgeteilt und so in die Ansätze gegeben, daß die Thromben auf das Endothel zu liegen kamen. Für den Versuch Nr. 4 wurde ein Thrombus aus der V. femoralis einer 51-jährigen Patientin verwandt. Die Todesursache bestand in einer akuten Pancreasnecrose und schubweisen Lungenembolien. 7 Tage nach Todeseintritt wurde der Versuch angesetzt. Um eine Vergleichsmöglichkeit zu haben, wurde ein Doppelversuch mit dem gleichen Thrombus unter den gleichen Bedingungen durchgeführt. Außerdem wurden 3 Ansätze ohne Gefäßwand ausgerüstet, um einen etwaigen Unterschied zwischen der Thrombolyse mit und ohne Gefäßwand feststellen zu können.

Die zu lysierenden Thrombenstücke wogen $0,07 \text{ g}$ ($\Delta \text{ G}$: $0,005 \text{ g}$). Die Abbildung K, L, M zeigen die Thromben nach dem Wiegen, unmittelbar vor dem Einsetzen in das Wasserbad. Man erkennt darauf die walzenförmige Gestalt und glatte Oberfläche der Thromben. Sie wurden folgenden Reaktionsgemischen zugesetzt:

K 1 : O E Sk, 1 ml Serum

K 2 : 5 000 E Sk, 1 ml Serum

1 ml Puffer

1 ml CaCl_2

K 3 : 5 000 E Sk, 1 ml Serum

1 ml Puffer Nach je 60' ausgewechselt

1 ml CaCl_2

L 4 : 0 E Sk, 1 ml Serum, Gefäßwand

L 5 : 5 000 E Sk, 1 ml Serum, Gefäßwand

1 ml Puffer

1 ml CaCl_2

L 6 : 5 000 E Sk, 1 ml Serum, Gefäßwand

1 ml Puffer Nach je 60' ausgewechselt

1 ml CaCl_2

M 7 : 0 E Sk, 1 ml Serum, Gefäßwand

M 8 : 5 000 E Sk, 1 ml Serum, Gefäßwand

1 ml Puffer

1 ml CaCl_2

M 9 : 5 000 E Sk, 1 ml Serum, Gefäßwand

1 ml Puffer Nach je 60' ausgewechselt

1 ml CaCl_2

Nach 2 - 3 Stunden traten in den Ansätzen, in denen das Reaktionsgemisch mit einer Pipette sehr vorsichtig unter geringer Flüssigkeitsbewegung und ohne Erschütterung alle 60 Minuten ausgewechselt worden war, an den Thromben Lysiszeichen in Form der in Versuch Nr. 3 beschriebenen Oberflächenveränderungen auf. Die Thromben erschienen aufgefaset und fraktioniert. Nach 4 - 5 Stunden waren

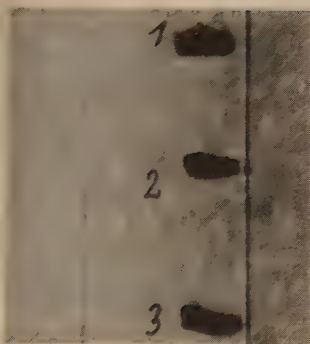


Abb. K. Thromben des Versuches ohne Gefäßwand-Zusatz, unmittelbar vor der Streptokinase-Einwirkung.

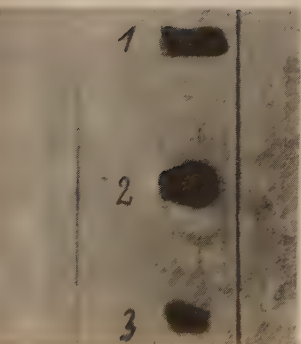


Abb. N. Die gleichen Thrombenteile nach 6-stündiger Streptokinase-Einwirkung. N 1 Kontroll-Versuch ohne Streptokinase, N 3 Thrombus aus dem Ansatz, in dem alle 60' das Flüssigkeitsgemisch erneuert wurde.

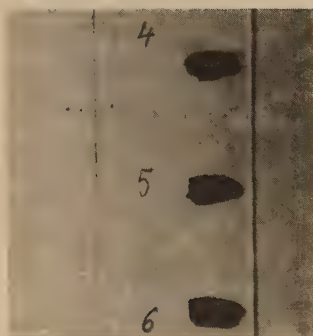


Abb. L. Thrombenteile des Versuches mit Gefäßwand-Zusatz. L 4 ohne Streptokinase. Die Abb. zeigt die Thromben unmittelbar vor Versuchsbeginn.

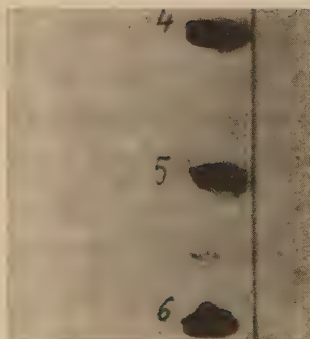


Abb. O. Die Thromben in der gleichen Reihenfolge nach 6-stündiger Streptokinase-Einwirkung. O 4 Kontroll-Versuch, O 6 Thrombus aus dem Ansatz, in dem alle 60' das Flüssigkeitsgemisch erneuert wurde.

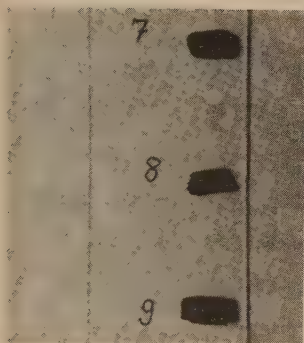


Abb. M. Thrombenteile des Parallel-
Versuches, der der Abb. L entspricht.

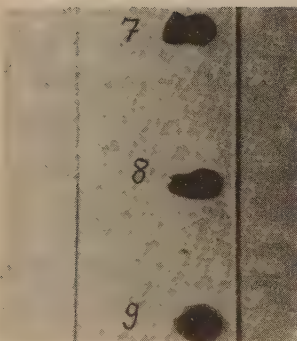


Abb. P. Die Abbildung zeigt die
Thrombenteile nach 6-stündiger
Streptokinase-Einwirkung.

diese Veränderungen auch an den übrigen Thromben in den Ansätzen mit Streptokinase zu erkennen. Nach 6 Stunden wurde der Versuch beendet, die Thromben photographiert und gewogen. Die Thromben aus den Ansätzen K 3, L 6 und M 9 hatten nach diesen 6 Stunden ein völlig verändertes Aussehen. Sie waren nicht mehr walzenförmig, sondern amöbenartig flach mit ausgefaserten Rändern. Ähnlich, nur nicht so stark ausgeprägt, waren die Lysis-bedingten Änderungen an den Thromben der Ansätze K 2, L 5 und M 8. Beim Herausnehmen aus den Versuchsansätzen wurden diese Thromben mit einem Teil der sie umgebenden Flüssigkeit in ein Glasrohr gesogen, da sie so an Festigkeit verloren hatten, daß sie mit einer Pincette nicht fixiert werden konnten. Die Thromben der Ansätze ohne Streptokinase, K 1, L 4 und M 7 besaßen dagegen ihre ursprüngliche Form und Konsistenz. Die Abbildungen N, O, P zeigen die Thromben nach 6 Stunden Streptokinase-Einwirkung in der gleichen Reihenfolge wie die Abbildungen K, L, M und verdeutlichen die beschriebenen Veränderungen.

Tab. 4 : Thrombengewichte zu den Abb. K, L, M, N, O, P.

G_1 vor, G_2 nach Sk-Einwirkung

G_1	G_2
K_1 0,07	N_1 0,0507
K_2 0,085	N_2 0,0498
K_3 0,077	N_3 0,0079
L_4 0,073	O_4 0,0671
L_5 0,07	O_5 0,0457
L_6 0,068	O_6 0,0190
M_7 0,071	P_7 0,0691
M_8 0,081	P_8 0,0371
M_9 0,075	P_9 0,0171

Die Gewichtsmessung ergab folgenden prozentualen Gewichtsverlust:

Thrombus aus Ansatz N 1 :	7,5 %
N 2 :	41,3 %
N 3 :	89,7 %
O 4 :	8,0 %
O 5 :	34,7 %
O 6 :	70,1 %
P 7 :	2,5 %
P 8 :	54,2 %
P 9 :	77,2 %

Um eine möglichst intensive Verbindung zwischen Thrombus und Gefäßwand zu ermöglichen, wurde im Versuch Nr. 5 einigen Ansätzen Gefäßwandmaterial in homogenisiertem Zustand zugesetzt. Aus der in Versuch Nr. 4 beschriebenen Aortenwand wurden kleine Stücke herausgeschnitten, die in ihren Ausmaßen etwa der Größe der Thromben entsprachen. Diese Gefäßstücke wurden in Serum suspendiert und bei 8000 U/Minute in einem Atommix-Mill-Homogenisator homogenisiert. Es wurden in diesem Versuch Teile des gleichen Thrombus verwandt, wie in Versuch Nr. 4. Auch wurde die Thrombolyse unter den gleichen Bedingungen durchgeführt wie sie im vorigen Versuch beschrieben sind, nur mit dem Unterschied, daß die Gefäßwand homogenisiert worden war. Die Thrombengewichte betrugen 0,08 g ($\Delta G: 0,007$ g)

Die Abbildungen Q, R, S zeigen die Thromben vor der Streptokinase-Einwirkung. Sie lassen eine glatte Oberfläche und zylindrische Formen erkennen. Die Reaktionsgemische waren folgendermaßen zusammengesetzt:

- Q 1 : 0 E Sk, 1 ml Serum
- Q 2 : 5 000 E Sk, 1 ml Serum
 1 ml Puffer
 1 ml CaCl_2
- Q 3 : 5 000 E Sk, 1 ml Serum
 1 ml Puffer Nach je 60 Minuten aus-
 1 ml CaCl_2 gewechselt
- R 4 : 0 E Sk, 1 ml Serum, homogen. Gefäßwand
- R 5 : 5 000 E Sk, 1 ml Serum, homogen. Gefäßwand
 1 ml Puffer
 1 ml CaCl_2
- R 6 : 5 000 E Sk, 1 ml Serum, homogen. Gefäßwand
 1 ml Puffer Nach je 60 Minuten aus-
 1 ml CaCl_2 gewechselt
- S 7 : 0 E Sk, 1 ml Serum, homogen. Gefäßwand
- S 8 : 5 000 E Sk, 1 ml Serum, homogen. Gefäßwand
 1 ml Puffer
 1 ml CaCl_2
- S 9 : 5 000 E Sk, 1 ml Serum, homogen. Gefäßwand
 1 ml Puffer Nach je 60 Minuten aus-
 1 ml CaCl_2 gewechselt

Im Verlauf dieses Experimentes konnten prinzipiell die gleichen thrombolytischen Effekte beobachtet werden,

wie im Versuch Nr. 4. Nach kurzer Zeit faserten die Thrombenoberflächen auf, besonders in den Ansätzen, in denen das Reaktionsgemisch regelmäßig ausgewechselt wurde, und die Thromben schrumpften zusammen. Nach 6-stündiger Streptokinase-Einwirkung wurde der Versuch beendet, die Thromben wiederum photographiert und gewogen. In den Ansätzen Q 1, R 4 und S 7 war keine Veränderung eingetreten. Die Thromben hatten ihre ursprüngliche Form und Konsistenz behalten. Lediglich der Thrombus aus Ansatz R 4 erschien etwas aufgequollen. Die Thromben der Ansätze Q 2, R 5 und S 8 waren weitgehend lysiert. Die Abbildung T 2, U 5 und V 8 zeigen sie als ovale, abgeplattete, dunkle Massen mit zerfließenden Rändern. Die Thromben der Ansätze Q 3, R 6 und S 9 waren so weit aufgelöst, daß sie nur mit der in Versuch Nr. 4 beschriebenen Ansaugmethode auf den Objektträger gebracht werden konnten. Der Versuch, die verbleibenden Restthromben mit Filterpapier zu trocknen, mißlang, da die teillysierten Massen nur durch den sie umgebenden Flüssigkeitstropfen zusammen gehalten wurden. Besonders deutlich zeigen die Abbildungen T 3 und U 6 den Grad der Auflösung.

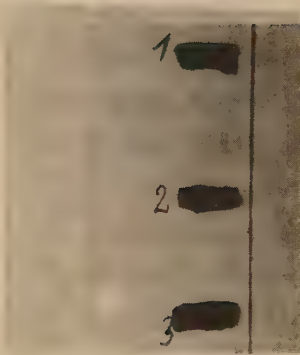


Abb. Q. Thrombenteile der Versuchsserie mit Zusatz von homogener Gefäßwand. Q 1 ohne Streptokinase, Q 2 und Q 3 Kontrollversuche ohne Gefäßzusatz. Q 3 Ansatz, in dem das Flüssigkeitsgemisch alle 60' ausgewechselt wurde.

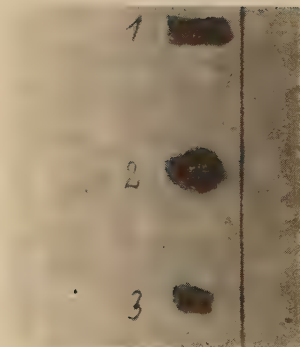


Abb. T. Thromben in der gleichen Reihenfolge wie oben, nach 6-stündiger Streptokinase-Einwirkung.



Abb. R. Thrombenteile der Versuchsserie mit Zusatz von homogenisierter Gefäßwand. R 4 ohne Streptokinase, mit Gefäßwand, R 5 mit Streptokinase und Gefäßwand, R 6 mit Streptokinase und Gefäßwand, außerdem Wechsel des Flüssigkeitsgemisches alle 60'.



Abb. U. Thromben in der gleichen Reihenfolge wie oben, nach 6-stündiger Versuchsdauer.

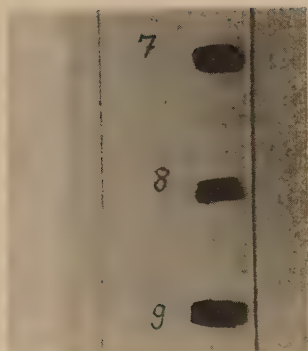


Abb. S. Thrombenteile des Parallel-Versuches, der in Anordnung und Zusammensetzung der Abb. R entspricht.

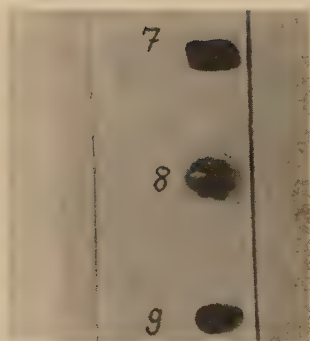


Abb. V. Die Thromben in der gleichen Reihenfolge wie oben, nach 6-stündiger Versuchsdauer.

Tab. 5 : Thrombengewichte zu den Abb. Q, R, S.

G_1 vor, G_2 nach Sk-Einwirkung

G_1	G_2
Q_1 0,082	0,0776
Q_2 0,08	0,0496
Q_3 0,081	0,0142
R_4 0,082	0,0799
R_5 0,077	0,0512
R_6 0,08	0,0117
S_7 0,083	0,0823
S_8 0,084	0,0293
S_9 0,079	0,0158

Der prozentuale Gewichtsverlust betrug bei dem Thrombus
des Ansatzes:

Q 1 : 5,3 %

Q 2 : 38,0 %

Q 3 : 82,4 %

R 4 : 2,5 %

R 5 : 33,5 %

R 6 : 85,3 %

S 7 : 0,8 %

S 8 : 65,1 %

S 9 : 80,0 %

Histologische Untersuchungen

Zur Klärung der Frage, ob der fibrinolytische Abbau von Thromben mit mikroskopisch erkennbaren Veränderungen vor sich geht, wurden Teile eines Thrombus in bestimmten Stadien der Auflösung aus dem Versuch herausgenommen. Nach 24-stündiger Fixierung in 7 %iger Formalin-Lösung wurden mit Hilfe der Paraffin-Einbettung 7,5 μ dicke Schnitte angefertigt und mit Hämatoxylin-Eosin angefärbt.

Der für diesen Versuch verwendete Thrombus wurde der V. femoralis einer 53-jährigen Frau entnommen, die an einer Bronchopneumonie und Urosepsis gestorben war. 2 Tage nach Todeseintritt wurde der Versuch angesetzt.

Die folgenden Abbildungen zeigen Querschnitte der Thrombenteile nach unterschiedlich langer Streptokinase-Einwirkung.

Abbildung 1 - 2. Ausschnitt aus dem Querschnitt des Thrombus, der sofort nach Entnahme aus der Vene in Formalin fixiert wurde. Die Oberfläche ist durch parallele Fibrinlamellen scharf begrenzt. Man kann eine typische Schichtung erkennen. In den dichten Fibrinmassen liegen zahlreiche Leukozyten, die an der Grenzlamelle reihenförmig angeordnet sind.

Abbildung 3 - 5. Querschnitt eines Thrombenteiles, das 24^h lang den gleichen Versuchsbedingungen unterlag, wie die übrigen Thrombenteile, jedoch ohne Streptokinase-Zusatz. Man erkennt eine schmale, unter der Thrombenoberfläche gelegene zirkuläre Auflockerungszone, in der einzelne dünne Fibrinlamellen von freien Zwischenräumen

unterbrochen sind. Zwischen der Auflockerungszone und den unverändert dichten Fibrinmassen im Inneren des Thrombus besteht ein kontinuierlicher Übergang.

Abbildung 6 - 8. Nach 6-stündiger Streptokinase-Einwirkung ist der Thrombus an einigen Teilen zersplittert. Das Fibrin ist stellenweise völlig herausgelöst, die Schnittfläche erscheint dadurch zerklüftet. Die erhalten gebliebenen Fibrinmassen erscheinen transparent, in deren ineinander verfilzten Fibrinfäden einige Leukozyten liegen.

Abbildung 9 - 11. Nach 24-stündiger Streptokinase-Einwirkung besteht das verbliebene Thrombenmaterial nur noch aus netzig-fädigen Fibrinmassen, die teils weitmaschig, teils dichter miteinander verbacken sind, mit unscharf begrenzten freien Zwischenräumen. An einigen Stellen sind die oberflächlich gelegenen Fibrinfäden aufgesplittert. Die den Thrombus durchziehenden keilförmigen Spalten sind zum Teil artefiziell durch die Schnitt-Technik bedingt. Die mikroskopischen Untersuchungen und die experimentellen Befunde lassen vermuten, daß die Auflockerung und stellenweise Auflösung der vorher dichten Fibrinmassen Ausdruck des fibrinolytischen Abbaues sind.



Abb. 1. Der Thrombus nach Ent-
nahme aus der Vene so-
fort in Formalin fixiert.
Vergr. 10
Färbung: HE



Abb. 2. 25 fache Vergrößerung
von Abb. 1

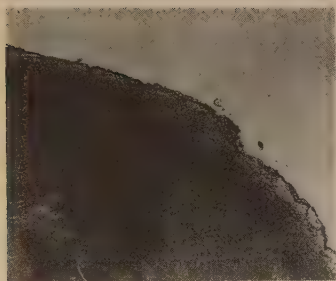


Abb. 3. Der gleiche Thrombus nach 24-stündiger Suspension in Serum mit 0.5 % Sk, bei 37° C.
Vergr. 10
Färbung: HE

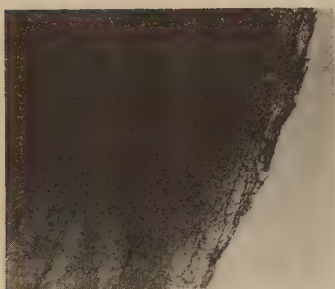


Abb. 4. 25 fache Vergrößerung von Abb. 3

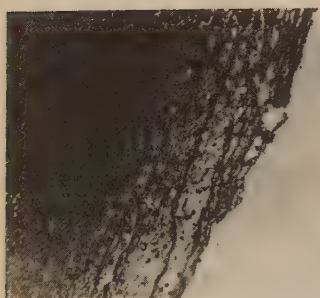


Abb. 5. 64 fache Vergrößerung von Abb. 3

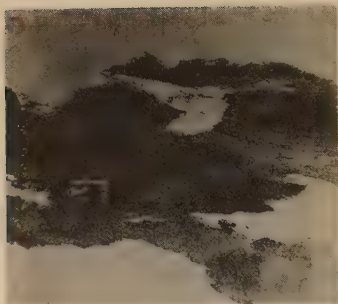


Abb. 6. Der gleiche Thrombus nach 6-stündiger Suspension in Serum mit 5 000 E Sk bei 37° C.
Vergr. 10
Färbung: HE



Abb. 7. 25 fache Vergrößerung von Abb. 6



Abb. 8. 64 fache Vergrößerung von Abb. 6



Abb. 9. Der gleiche Thrombus nach 24-stündiger Suspension in Serum mit 5 000 E Sk bei 37° C. Vergr. 10 Färbung: HE



Abb. 10. 25 fache Vergrößerung von Abb. 9

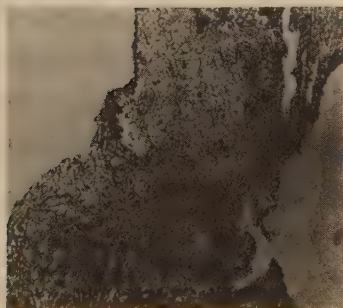


Abb. 11. 64 fache Vergrößerung von Abb. 9

Zusammenfassung der eigenen Untersuchungen und deren Ergebnisse.

Im Versuch Nr. 1 wurden annähernd gleich große Thrombenstücke bei 37° C der Einwirkung verschiedener Streptokinase-Konzentrationen ausgesetzt. In dieser und den folgenden Versuchsserien wurde parallel ein Kontrollversuch ohne Streptokinase-Zusatz ausgeführt.

In den Streptokinase-haltigen Ansätzen war nach 24^h eine vollständige Auflösung der Thrombenteile zu beobachten, im Kontrollversuch ohne Streptokinase fand sich dagegen kein thrombolytischer Effekt. Die Versuchsansätze wurden vor und nach Streptokinase-Einwirkung fotografiert und gewogen.

Der Versuch Nr. 2 wurde unter den gleichen Bedingungen vorgenommen wie in Versuch Nr. 1, die Streptokinase-Einwirkung jedoch auf 48^h verlängert. Auch hier zeigte sich in allen Ansätzen mit Streptokinase ein starker thrombolytischer Effekt, während das Thrombenstück aus dem Kontrollversuch keine morphologischen Veränderungen aufwies.

Im Versuch Nr. 3 wurde die die Thrombenteile umgebende Flüssigkeit in regelmäßigen Abständen abgesaugt und durch frisches Serum gleicher Zusammensetzung ersetzt, um eine möglichst optimale und constante Streptokinase-Konzentration zu erzielen, und um einen hemmenden Einfluß auf die Thrombolyse durch die bereits lysierten Thrombenteile und Stoffwechselprodukte zu verhindern. Die Streptokinase-Dosierung wurde hier auf 5 000 E festgelegt, die Serum-Zusätze und alle übrigen Versuchsbedingungen entsprachen

genau denen der vorherigen Versuche.

Aus technischen Gründen wurden hierbei Glasröhrchen mit einem größeren Durchmesser ausgewählt, um beim Auswechseln des Flüssigkeitsgemisches ein Berühren der Thromben zu vermeiden. Nach 6-stündiger Streptokinase-Einwirkung, in der das Flüssigkeitsgemisch 6 mal erneuert worden war, wurden die verbliebenen Thrombenreste wiederum photographiert und gewogen. Eine deutliche Steigerung der thrombolytischen Wirkung durch Erneuerung des Flüssigkeitsgemisches konnte hierbei nicht beobachtet werden.

Nach Ansicht einiger Autoren soll das Endothel arterieller Blutgefäße Proaktivatoren des fibrinolytischen Reaktionssystems enthalten. Eine mögliche Steigerung der Thrombolyse durch diese in der Gefäßwand haftenden Proaktivatoren nachzuweisen, war die Aufgabe der folgenden Versuche.

Im Versuch Nr. 4 wurden unter sonst gleichen Bedingungen wie in den vorigen Versuchen Thrombenstücke auf dem Endothel entsprechend großer Gefäßwandausschnitte befestigt. Nach 6-stündiger Streptokinase-Einwirkung wurde der Versuch abgebrochen, die Thrombenreste photographiert und gewogen.

In gleicher Weise wurde der Versuch Nr. 5 durchgeführt, nur wurde hier die Gefäßwand in homogenisiertem Zustand in das Reaktionsgemisch verbracht, um eine möglichst enge Verbindung zwischen Proaktivator enthaltende Gefäßwand und Thrombenstück herzustellen. Auch hier wurde der Versuch nach 6 Stunden beendet, die Thrombenreste photographiert und gewogen.

Hinsichtlich der thrombolytischen Wirkung konnte unter der angewandten Versuchsanordnung eine Wirkungssteigerung durch die im Endothel fixierten Proaktivatoren nicht festgestellt werden.

Zur genaueren Erfassung der Veränderungen innerhalb der Thrombenstruktur unter der Streptokinase-Einwirkung wurden mikroskopische Untersuchungen an Thrombenteilen durchgeführt. Das hierfür verwendete Thrombenmaterial wurde während der Streptokinase-Einwirkung den gleichen Bedingungen ausgesetzt, wie sie in den anderen Versuchen beschrieben wurden. Die einzelnen Thrombenteile wurden in bestimmten Stadien der Auflösung aus dem Reaktionsgemisch entfernt und nach entsprechender Vorbereitung unter dem Mikroskop untersucht und mit unterschiedlichen Vergrößerungen photographiert.

DISKUSSION

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, durch eine geeignete Versuchsanordnung festzustellen, in welchem Maße intravital entstandene Thromben durch Streptokinase in vitro, d. h. außerhalb des lebenden Gefäßes aufgelöst werden können.

Klinische und angiographische Untersuchungen bei Thrombosen geben zwar durchaus objektiv verwertbare Befunde darüber, ob und wie weit die Durchblutung in dem betroffenen Abschnitt nach der thrombolytischen Therapie wieder intakt ist. Sie erlauben jedoch keine Aussagen über den Auflösungsgrad der Thromben. Es könnte ja auch sein, daß die Wiederdurchblutung über vorhandene Kollateralen oder neu eröffnete Anastomosen z. B. arteriovenöse Kurzschlüsse spontan bewerkstelligt worden ist. Die klare Beantwortung der Frage, ob ein Thrombus, d. h. hier ein Gerinnsel aus Fibrin und korpuskulären Blutbestandteilen, mittels fibrinolytischer Therapie tatsächlich aufgelöst wird, ist daher von aktuellem Interesse.

Die bekannten Methoden, die sich mit der in-vitro-Lyse von Blutgerinnseln befassen (Streptokinase-Resistenztest, Thrombelastographie), geben keinen Aufschluß darüber, ob mittels Streptokinase die Lyse eines echten Vollblutgerinnsels einganggesetzt werden kann, da die zu diesen Versuchen verwendeten Gerinnsel aus recalcifiziertem Zitratplasma oder Oxalatplasma hergestellt werden. Außerdem wird ja die Streptokinase schon vor der Gerinnselbildung zugesetzt (37).

Aus den Angaben ROSOLLECKS, der mit intravital entstandenen Blutgerinnseln gearbeitet hat, geht nicht hervor, wie groß die lysierten Gerinnsel waren und welchen Lösungsmittelmengen die dort verwendete Varidase[®] zugesetzt worden war (27).

Bei In-vitro-Thrombolyse-Untersuchungen an Tieren wurden als Zeichen der Thrombolyse angiographische Befunde, Abnahme der Radioaktivität damit markierter Thromben und sichtbare Veränderungen gewertet (11, 12, 28, 35). Die Gerinnsel wurden durch Injektionen thromboplastischer Substanzen, mechanische oder chemische Reizungen der Gefäßwand erzeugt, ohne jedoch Material vergleichbarer Ausdehnungen zu erhalten. Die Überlegungen zahlreicher Autoren lassen darauf schließen, daß das Plasminogen-Plasmin-System von Menschen und Tieren unterschiedlich ist (37,38,16,26). Die Schlußfolgerung aus den therapeutischen Ergebnissen mit Streptokinase beim Thrombosekranken und aus dem Tierexperiment, daß es sich um eine Thrombolyse handeln müsse, ist nicht zwingend. Es könnte auch nur eine Rekanalisierung infolge günstiger Organisationsverhältnisse zustand gekommen sein. Es sind die klinischen Beobachtungen, wie beispielsweise die Abnahme einer Beinschwellung bei Bein- oder Beckenvenenthrombosen, angiographische Befunde über die Wiederkehr des Arterienpulses bei arteriellen Thrombosen, elektrokardiographische Veränderungen nach Herzinfarkten keine sicheren Beweise für die thrombolytische Wirksamkeit der Streptokinase bei der jetzt gebräuchlichen fibrinolytischen Therapie (15).

Erschwerend für die Beurteilung des Erfolges der Streptokinase-Therapie kommt hinzu, daß man weder die Art (Abscheidungs- oder Gerinnungsthrombus), noch das Alter und den Organisationsgrad eines Thrombus exakt bestimmen kann. Nur Gerinnungsthromben enthalten genügend Fibrinmaterial, das proteolytisch abgebaut wird und damit den Zerfall des Thrombus einleitet und schließlich seine Auflösung bewirkt. In der Mitte stehen die gemischten Thromben, deren Fibrinanteil angegriffen wird. Nicht zugänglich sind die vorwiegend aus Plättchen bestehenden Abscheidungsthromben.

Nach Ansicht vieler Autoren setzt wenige Tage nach entstandener Thrombosierung die "Organisation" des Thrombus durch Bildung eines ihn umhüllenden Endothels ein. Im weiteren Verlauf der Organisation kommt es zur Ausbildung von Fibroblasten und kollagenen Fasern im Thrombusinneren, der in diesem Zustand durch Streptokinase nicht mehr oder nur noch hinsichtlich seiner Fibrinbestandteile zu beeinflussen ist (2, 6). In diesem Stadium kann wahrscheinlich nur noch eine Lockerung des Gefüges oder besten Falles eine Fragmentierung erfolgen. Die vorliegenden Untersuchungen haben ergeben, daß sämtliche Thromben unter Streptokinase-Einfluß entweder völlig oder teilweise aufgelöst wurden. Die Thromben aus den Kontrollversuchsansätzen zeigen zwar auch einen geringen Gewichtsverlust, der jedoch in jedem Fall erheblich kleiner war, als der von Thromben aus den Ansätzen mit Streptokinase. Die Ursache für diese Autolyse ist offenbar in dem Wirksamwerden geringer fibrinolytischer Substanzen zu suchen, die vom Fibrin adsorbiert worden waren.

Die hier angewandten Streptokinase-Dosierungen waren bedeutend höher als die klinisch verwendeten Dosen. Bei einer angenommenen Gesamtblutmenge von 5 l würden sie einer Dosierung von 5, bzw. 10, 25 und 50 Mill. Einheiten entsprechen.

Nachdem wir in Vorversuchen festgestellt hatten, daß wesentlich niedrigere Dosen nur wenig Wirkung entfalteten, entschlossen wir uns zur Überdosierung. Außerdem sollte die Streptokinasekonzentration so hoch sein, daß die wirksamen Inhibitoren (Antistreptokinase, Antiplasmin) in den Reaktionsansätzen nicht wirksam werden konnten.

Das zeitliche Intervall zwischen Todeseintritt und Versuchsbeginn betrug zwischen 2 und 14 Tagen. Eine durch längere Lagerung bedingte Inaktivierung der Fermentsysteme machte sich bei dem 14 Tage alten Thrombus noch nicht bemerkbar, da er vollständig lysiert wurde. Da die Fermentsysteme durch extrem niedrige Temperaturen geschädigt werden, wurden die Thromben bei 4° C im Kühlschrank bis zum Versuchsbeginn gelagert. Nach Untersuchungen von EMMRICH kommt es vom Entstehungsort des Thrombus an der Gefäßwand und von den Verklebungen damit aus zur Bildung eines Granulationsgewebes, von dem Fibroblasten und Kapillaren in den Thrombus einsprossen (6). Die durchgeführten mikroskopischen Untersuchungen ergaben jedoch keine Anhaltspunkte für endotheliale Zellüberzüge, Fibroblasten oder Vascularisationen. Diese Feststellungen sind in sofern wichtig, da sich andererseits Thrombolyse-Erfolge durch Zerstörung dieses endothelialen Überzuges, der eine Barriere für das Eindringen der Proaktivatoren bildet, klären lassen (1). Die bindegewebige

Organisation verläuft jedoch nicht zu bestimmten Terminen und grundsätzlich gleichmäßig, außerdem kann ein Thrombus sehr unterschiedlich zusammengesetzt sein (19, 37).

GREEN stellte fest, daß bestimmte Blutsalze die fibrinolytische Aktivität bei in-vitro-Versuchen steigern (8). Bisher konnte jedoch noch nicht der Angriffspunkt dieser Salze an den Fermentsystemen der fibrinolytischen Vorgänge aufgeklärt werden. Bei den von uns durchgeführten Versuchen konnte ebenfalls eine gesteigerte Fibrinolyse unter Zusatz von $m/40$ CaCl_2 -Lösung vermerkt werden. Allerdings nur in Verbindung mit einer bestimmten Streptokinase-Dosierung von 5000 E, die sich bei dem von uns untersuchten Thrombenmaterial als optimaler Mittelwert erwies. Hinsichtlich der Zugabe von CaCl_2 muß auf den Einfluß der Ionenkonzentration auf die Thrombolyse in in-vitro-Versuchen hingewiesen werden (5, 7, 18, 38). Um Änderungen der fibrinolytischen Vorgänge durch unphysiologische Ionenkonzentrationen zu vermeiden, wurde in allen Ansätzen jeder Versuchsserie Serum als Lösungsmittel der Streptokinase verwendet.

Die Angaben über den für Plasmin günstigsten pH-Wert sind sehr unterschiedlich. Die Verwendung von Serum in den vorliegenden Versuchen ermöglichte die Reproduktion von pH-Verhältnissen wie sie auch in-vivo bestehen. In den Ansätzen mit CaCl_2 -Zugabe wurde die pH-Verschiebung durch Zugabe von Pufferlösung (pH : 7,3) verhindert.

In den Versuchsserien, in denen in zeitlich gleichen Abständen die Reaktionsgemische erneuert wurden, zeigte sich ein deutlich gesteigerter thrombolytischer Effekt. Durch Beseitigung der lysierten Thrombenbestandteile und der

Stoffwechselprodukte aus der Umgebung des Thrombus wurde den Fermentsystemen beständig neue Sk zugeführt. Vermutlich ist die gesteigerte Thrombolyse überwiegend durch das vermehrte Angebot an Sk und durch die Beseitigung der fermentativen Vorgänge hemmenden Stoffwechselprodukte bewirkt.

Durch die Suspension der Thromben in Serum wurde nicht nur das thrombuseigene Plasminogen, sondern auch fremdes, im Mischserum enthaltenes Plasminogen aktiviert (37). Die Verwendung von physiologischer NaCl-Lösung anstelle des Serums hätte jedoch neben der erwähnten Änderung in der ionalen Konzentration zu einer erheblichen pH-Verschiebung geführt, so daß also das Serum geeigneter erschien. Es ist anzunehmen, daß durch die ebenfalls im Serum befindlichen Inhibitoren die Aktivierung des Serumplasminogens weitgehend gehemmt wird. Das Verhältnis Inhibitor zu Plasmin im Blut wird mit 5 : 4 bis 30 : 1 angegeben (22).

Durch Zusatz von Gefäßwand zu den Ansätzen ließ sich kein gesteigerter thrombolytischer Effekt erzielen. Es kann also keine Beschleunigung oder Verstärkung der Thrombolyse unter der angewendeten Versuchsanordnung festgestellt werden. Außer der Möglichkeit, daß für das Wirksamwerden eines möglichen Gefäßwandfaktors besondere Bedingungen erfüllt sein müssen, die in den vorgenannten Versuchen nicht gegeben waren, könnte man daran denken, daß dieser Faktor bereits *in vivo* von den Thromben adsorbiert worden ist und so an der Thrombolyse tatsächlich beteiligt war. Die histologischen Untersuchungen lassen darauf schließen, daß

die Thrombolyse mit einer Auflockerung der peripher gelegenen maschen- und balkenartig angeordneten Fibrinanteile beginnt. Gleichzeitig scheint eine Aufquellung einzusetzen, welche die peripher gelegenen konzentrisch angeordneten Fibrinlamellen aufplatzen läßt und das Eindringen der Streptokinase durch die so entstandenen keilförmigen Aussparungen in das Thrombusinnere fördert. Die lamelläre Randzone des Thrombus scheint im Vergleich zum Thrombusinneren wenig lysisresistent zu sein und mit einigen ebenfalls erhaltenen Fibrinbälkchen ein äußerst instabiles Gerüst zu bilden, wie es bei einigen nicht vollständig lysierten Thromben zu erkennen war (2). Diese fragilen Thrombenreste waren schon dadurch zu zerstören, daß man sie von der umgebenden Flüssigkeit herausnahm. Über die Auflösung der zellulären Thrombenbestandteile lassen sich keine sicheren Aussagen machen (2). Ähnliche Feststellungen wurden von SANDRITTER und BERGERHOF gemacht (29). Nur die Sedimentuntersuchungen zeigten Blut-schatten; teil-lysierte Thromben ließen dagegen unzerstörte Erythrozyten erkennen.

An Hand der durchgeführten Versuche konnte die thrombolytische Wirksamkeit der Streptokinase an intravital entstandenen Blutgerinnseln nachgewiesen werden. Nach Untersuchungen von BACK, AMBRUS et.al. ist ein voller fibrinolytischer Therapieerfolg nicht mehr gewährleistet, wenn der Thrombus älter als 3 Tage ist (9). Von den hier verwandten Thromben bestand der in Versuch Nr. 2 angeführte, nach anamnestischen Angaben, mit Sicherheit bereits 2 Wochen vor Eintritt des Todes, von den übrigen dürften ebenfalls einige länger als 3 Tage existiert haben. Demnach müßte bei der

Beurteilung des thrombolytischen Erfolges weniger das Alter als der Organisationsgrad eine besondere Berücksichtigung erfahren. Einige Autoren stellten fest, daß bis zu 18 Tage alte Thromben noch wesentliche Mengen an Fibrin oder fibrinähnlichem Protein besitzen (11). Thromben, die bindegewebig organisiert sind, lassen sich zwar nicht vollständig auflösen, jedoch läßt sich noch das verbliebene Fibrin herauslösen, so daß im Gefolge eine teilweise Rekanalisierung des Gefäßrohres zustande kommt.

ZUSAMMENFASSUNG

Intravital entstandene, venöse Thromben, die während der Obduktion entnommen worden waren, wurden bei 37°C in Humanserum suspendiert, und verschiedenen Streptokinase-Dosierungen, zum Teil zusammen mit Arterienwandzusätzen kombiniert, zugesetzt. Die eintretende Thrombolysen wurde bis zu 48^{h} beobachtet. Die unter Streptokinase-Einwirkung gestandenen Thromben wurden in bestimmten zeitlichen Intervallen mit dem Zustand von Thromben des gleichen Menschen verglichen und das verschiedene Aussehen photographisch registriert. Sie wurden weiter vor und nach der Streptokinase-Einwirkung zur Berechnung des prozentualen Gewichtsverlustes gewogen. Außerdem wurden sie, bzw. das thrombolysierte Material vor und nach der Streptokinase-Einwirkung histologisch untersucht. Eine thrombolytische Wirksamkeit konnte in allen Ansätzen, denen Streptokinase zugefügt war, nachgewiesen werden. Eine Steigerung des thrombolytischen Effektes durch Zusatz von Gefäßwand war in der angewendeten Versuchsanordnung nicht zu beobachten.

Literaturhinweise

- 1 Amburs, J. L. Clinical pharmacology of various types of fibrinolytic enzyme preparations.
Ambrus, C. L.
et al.
Amer. J. Cardiol. 6, 462 (1960)
- 2 Baek, N. Study on the effect of Sk-activated Plasmin (Fibrinolysin) on clots in various stages of organization.
Ambrus, J. and
Simpson and Shulman
J. clin. Invest. 37, 864 (1958)
- 3 Boucek, R.J. and Segmental perfusion of the coronary arteries with fibrinolysin in man following a myocardial infarction.
W. B. Murphy
Amer. J. Cardiol. 6, 525 (1960)
- 4 Bouvier, C. A. Etude histologique de l'effet d'enzymes fibrinolytiques sur l'évolution d'un infarctus expérimental chez le chien.
P. Rueggsegger et
J. Nydeck
Helv. med. Acta 27, 656 (1960)
- 5 Buckel, M., M. Salt Concentration and Fibrinolytic Activity.
Truscott
Nature, (London) 183, 1268 (1959)
- 6 Emmrich, R. Untersuchungen an Gefäßfüllsehn bei arteriellen Durchblutungsstörungen.
Münch. med. Wschr. 102, 823 (1960)
- 7 Fearnley, G. R. Wirkung der Ionenkonzentration auf die Fibrinolyse.
Cli. Sci. 16, 645 (1957)

- 16 Macfarlane, R. Observations on fibrinolysis, plas-
 Pilling, J. minogen, plasmin and antiplasmin
 content in human blood.
 Lancet, 2, 562 (1946)

- 17 Marx, R. Thrombose und Embolie.
 Basel 1955

- 18 Marx, R., Blutsalze und Fibrinolyse im
 C. Hiller menschlichen Serum.
 Klin. Wschr. 30, 71 (1952)

- 19 Marx, R. Die Wirkungsweise der Fibrinoly-
 tica und Antifibrinolytica.
 V. Hamburger Symposion über Blut-
 gerinnung, zit. nach Zuckschwerdt,
 L. und H. Thies: Experimentelle
 Fibrinolyse. (1963)

- 20 Meyer, J. S. Therapeutic Thrombolysis: In Cere-
 R.M. Herndorn bral Vascular Deseases, p. 160
 and J.F. John- Third conference
 son New York-London: Grune & Statton
 (1961)

- 21 Misirligh, J. The physiologic enzyme activating
 Lillehe, Cl. profibrinolysin and the substances
 which inhibit activation. Locali-
 sation, clinical importance and
 pathogenesis.
 Angiology 13, 185 (1962)

- 22 Pezold, F.A. Fibrinolyse und fibrinolytische
 Therapie.
 Wissen und Praxis (1963) Nov.

- 23 Pezold, F.A. Zur thrombolytischen Therapie des
 et al. frischen Herzinfarktes. I
 Dtsch. med. Wschr. 13, 581 (1966)

- 24 Pezold, F. A. Zur thrombolytischen Therapie des
et al. frischen Herzinfarktes. II
Dtsch. med. Wschr. 21, 978 (1966)
- 25 Rintelen, F. Persönliche Mitteilungen, 1963
- 26 Ratnoff, O.D. Physiologic and pathologic effects
of increased fibrinolytic activity
in man with notes on the effect of
exercise and certain inhibitors
on the fibrinolysis.
Amer. J. Cardiol. 6, 378 (1960)
- 27 Rosolleck, H. Lyse von humanen Blutgerinnseln im
Reagenzglas.
Klin. Wschr. 440 (1963)
- 28 Sailer, S. O. Tierexperimentelle Thrombolysever-
Eber suchte mit direkt wirkenden Fibri-
nolytica.
Klin. Wschr. 212 (1963)
- 29 Sandritter, W. Morphologische Untersuchungen zur
H.D.Bergerhof Wirkung des Heparins auf experimen-
telle Abscheidungsthombose.
Frankf. Z. Path. 65, 343 (1954)
- 30 Schmidt, H.W. Zur thrombolytischen Therapie
mit Streptokinase.
Dtsch. med. Wschr. 28, 1407 (1963)
- 31 Schmidt, H.W. Kommt es durch Streptokinase zur
Thrombolyse?
Dtsch. med. Wschr. 28, 1385 (1963)
- 32 Schmutzler, R. Symposion über thrombolytische
Therapie, München 1966
zit. aus Selecta 3, 136 (1967)

- 33 Schmutzler, R. Die Thrombolyse-Therapie.
und F. Koller Ergebnisse der Inneren Medizin
und Kinderheilkunde.
Springer-Verlag 1965
- 34 Seegers, H.W. The Activation of Prothrombin.
Behringwerk-Mitteilungen 41, 13
(1962)
- 35 Sherry, S. et al. The enzymatic dissolution of
experimental arterial thrombi
in the dog by trypsin, chymo-
trypsin and plasminogen activators.
J. clin. Invest. 33, 1303 (1954)
- 36 Sherry, S. et al. Developments in Fibrinolytic The-
rapy for Thrombo-embolic De-
seases.
Ann. Int. Med. 50, 560 (1959)
- 37 Stamm, H. Einführung in die Klinik der
Fibrinolyse.
S. Karger, Basel 1962
- 38 Weiner, M. Lability of Fibrinolysin.
Nature (London) 184, 1937 (1959)
- 39 Witte, S. Klinische Erfahrungen über die
Dosierung der fibrinolytischen
Therapie.
Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.)
Suppl. 3 ad Vol. VII 189 (1963)

Die Anregung zu dieser Arbeit kam von Herrn Professor Dr. med. Fritz A. Pezold, dem ich für seine stete Hilfsbereitschaft und Mühe bei der Betreuung der Dissertation besonderen Dank schulde. Auch Herrn Professor Brandenburg möchte ich an dieser Stelle für die Mitbetreuung dieser Arbeit herzlich danken.

Lebenslauf

Am 17. 1. 1940 wurde ich als Sohn des Tierarztes Ulrich Sparr und seiner Ehefrau Charlotte, geborene Klemer, in Belzig/Mark Brandenburg geboren. Von 1946 bis 1954 besuchte ich die Volksschule in Belzig und Zossen, anschließend die Ulrich-von-Hutten-Schule in Berlin-Lichtenrade, an der ich im Mai 1960 die Reifeprüfung bestand.

Im Sommersemester 1960 begann ich an der Freien Universität Berlin das Studium der Medizin.

Nach elfsemestrigem Studium an der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin bestand ich im März 1966 das Staatsexamen. Zur Zeit befinde ich mich im zweiten Jahr der Medizinalassistentenausbildung.

